

12. 獣医科学部

部長 前田 健

概要

獣医科学部は、戸山庁舎に配置され、第一室、第二室、第三室の3室で構成され、動物由来ウイルス感染症、動物由来細菌感染症のリファレンス・研究業務を行っている。第一室はブルセラ症、カプノサイトファーガ感染症、鼠咬症、SFTS、新興動物由来感染症を、第二室は狂犬病、リッサウイルス感染症、ニパウイルス感染症、炭疽を、第三室は野兔病及び近縁菌、Bウイルス、コロナウイルス等に関するリファレンス業務、研究業務を行っている。また、SARS-CoV-2 に関しては部全体での対応を行っている。

第一室では、SFTS ウイルスの動物感染実験、愛玩動物の診断、動物での疫学調査を行っている。その過程で、静岡県では最初の患者報告に先駆けてネコ・イヌのSFTS発症例を確定し、また、SFTS発症ネコの流死産例についても解析を行った。国内COVID-19の伴侶動物での病態解明のためネコで感染実験を行い、発症はしないが急性期にウイルスを鼻腔、口腔から排出することを明らかにした。検査用 *Bruceella canis* 抗原の製造撤退による民間検査機関での抗体検査中止に対応するため、厚生労働省と協議の上、当室で検査抗原を作成し、行政検査としてブルセラ症抗体検査を開始した。長野県内の新規ブルセラ属菌の位置づけを明らかにするため、遺伝子解析等を行った。カプノサイトファーガ感染症の疫学調査を継続して実施するとともに、*C. canimorsus* の荚膜遺伝子型とヒトへの病原性の関連の解析および当室で発見した新菌種の公衆衛生上のリスク評価を進めている。鼠咬症は継続して依頼検査および調査研究を実施している。Bウイルスに関してはサルでの疫学調査を行い、野生のサルの多くが感染していることを再確認した。

第二室では、国内外の関係機関等の協力を得て狂犬病、炭疽、ヘニパウイルス感染症等に係る予防体制の推進に係る調査研究を行って、感染源動物及び危機管理対応に関わる診断系の構築、アジアを中心とした海外の感染症研究機関等との共同研究によるラボラトリーネットワーク構築の強化を継続して行った。豊橋市における狂犬病患者の発生を受けて、現地調査に同行するとともに、診断・ウイルス分離を行った。更

に、分離ウイルスを用いた新規ワクチン開発も開始した。また、国産の狂犬病ワクチン生産の問題点を解決するためのワクチン改良に関しても研究を開始した。更に、狂犬病以外のリッサウイルスの調査のための、抗体診断のための基盤を整備している。

第三室では、野兔病の病原性関連遺伝子破壊株の病原性を確認、宿主側の感染防御に関わる遺伝子の同定、環境における生残性の検討、国内患者由来株である *Francisella hispaniensis* の全塩基配列を決定した。更には死亡動物調査システムの構築と運用を行っており、SFTS への展開応用を進めている。野生鳥獣肉に関わる E 型肝炎ウイルスのリスクに関して、検査を継続している。動物の SARS-CoV-2 感染を検査するための、検査法を確立した。また、SARS-CoV-2 の全ゲノム解析法を導入し、ヒトを含む SARS-CoV-2 ゲノムの解析を実施している。更に、SARS-CoV-2 の所における抗体検査チームに参加し、貢献している。

当該年度は、客員研究員6名：森川茂(岡山理科大学獣医学部)、春原正隆(日本歯科大学生命歯科学部)、下田宙(山口大学共同獣医科学部)、佐藤克(佐藤獣医科)、朴天鎬(北里大学獣医学部獣医病理学研究室)、武藤淳二(科学警察研究所法科学第一部生物第5研究室)

協力研究員6名：山崎明子(岩手大学農学部)、彦野弘一(帝京科学大学生命環境学部)、山田健太郎(大分大学全学研究推進機構)、後飯塚僚(東京理科大学生命医科学研究所)、櫻井正幸(東京理科大学生命医科学研究所)、岡田修平(東京理科大学生命医科学研究所)

研究生7名：黒田雄大(山口大学共同獣医学部)、立本完吾(山口大学共同獣医学部)、Milagros Virhuez Mendoza(山口大学共同獣医学部)、原田倫子(山口大学共同獣医学部)、井上雄介(山口大学共同獣医学部)、土井寛大(日本獣医生命科学大学獣医学部)、紀熙華(東京理科大学生命医科学研究所)

実習生3名：池田聖(東京農業大学農学部動物科学科)、西本耕生(東京農業大学農学部動物科学科)、宮川武大(東京農業大学農学部動物科学科)が在籍した。

当部は、山口大学共同獣医学研究科(専任教員:前田健)・連合獣医学研究科(指導教員:前田健)、及び岐阜大学大学院連合獣医学研究科の連携大学院講座(教授:前田健、准教授:井上智)として学生指導を行っている。

業績

調査・研究

I. 愛玩動物由来感染症に関する研究

1. 愛玩動物由来感染症の調査研究

厚生労働行政推進調査事業補助金・愛玩動物由来感染症研究班として、各種愛玩動物由来感染症の発生状況調査、カプノサイトファーガ属菌の薬剤耐性と莢膜遺伝子型の解析、エキノコックス症における愛知県の野犬の陽性率調査と北海道の農村部飼育犬調査、ドバトの *Chlamydia psittaci* や野良猫の *C. felis* の保有状況調査、愛玩用エキゾチックアニマルの流通過程や展示施設における異常死等の原因解明、地域猫および家庭飼育猫における薬剤耐性菌保有率調査、などを行い、得られた知見を元に一般飼育者・国民に対する啓発のための情報発信を行った。[今岡浩一、鈴木道雄; 森嶋康之(寄生動物部)、宇根有美、小野文子(岡山理科大学)、福土秀人(岐阜大学)]

II. ブルセラ症に関する研究

1. ブルセラ症の疫学的調査研究

ブルセラ症(Brucellosis)は、ブルセラ属菌(*Bruceella* spp.)による動物由来感染症で、1999年4月1日施行の感染症法に基づく感染症発生動向調査では4類感染症として、診断した医師に全数届出が義務付けられている。当室では国内症例について行政検査対応を担当しているが、令和2年度には、患者1例(*B. canis* 感染1例)が届け出られ、1999年度からの累計では、47例(*B. melitensis* または *B. abortus* 感染15例、*B. canis* 感染32例)となった。前者はすべて輸入症例であり、後者はすべて国内感染例となっている。[今岡浩一、鈴木道雄、朴ウンシル、前田健]

2. ブルセラカニス抗原の調整とブルセラ症抗体検査体制の確立

ヒトのブルセラ症検査に使用していた *B. canis* 抗原のシングルサプライヤーの製造撤退により、これまで行われていた民間検査機関でブルセラ症の抗体検査診断ができなくなった。厚生労働省と協議の末、感染研で *B. canis* の検査用抗原を

作成し、家畜ブルセラ属菌に対する抗体検査と合わせて行政検査として検査を実施することになった。検査用抗原の作成と検査のバリデーション、検査実施開始を受けて、厚生労働省健康局結核感染症課より2020年10月21日付で、地方自治体衛生主管部局・日本医師会など関係諸機関に2020年10月26日以降、ブルセラ症の検査は当方にて行政検査として実施する旨、通知を発出し、対応を開始した。[今岡浩一、鈴木道雄、前田健]

3. 既存のブルセラ属菌とは異なるブルセラ属菌による感染事例の検討

新規ブルセラ属菌(SCH17, MAH18)のMLST9によるシーケンスタイピング(ST)では、7遺伝子については *B. suis* biovar 5の配列と完全一致したが、*glk* と *omp25* については2株の間に、それぞれ1塩基の置換が認められた。全体では、ST19 (*B. suis* biovar 5)、25 (*B. pinnipedialis*)、53 (*B. microti*)と近縁だがそれぞれ異なる1遺伝子に違いがあった。鞭毛関連遺伝子群では、*B. suis* biovar 5と同様に新規ブルセラ属菌は半数ほどを欠損していた。全ゲノム解析やMLST9、生化学的性状解析の結果などから、新規ブルセラ属菌は *B. suis* biovar 5の subspecies の位置づけになる可能性が考えられた。また、長野県内の動物病院を受診した犬87頭・猫115頭の調査では、家畜 *Bruceella* 属菌に対する抗体陽性はなかったが、*B. canis* に対する抗体陽性犬が2頭確認された。

[今岡浩一、鈴木道雄、朴ウンシル、前田健; 森川茂(岡山理科大学)]

4. 両生類由来ブルセラ属菌に関する研究

国内で各種のカエルから分離された *Bruceella* 属菌6株について、MLST9によるタイピングを行った。その結果、国内分離株は3つのシーケンスタイプ(ST)に分けられた。海外分離株にはこれらと完全一致するSTはなく、それぞれが新しいSTであることが明らかとなった。*Glucokinase* (*glk*) 遺伝子をターゲットとしたPCR検出系を構築した。同検出系は国内カエル分離株全てを検出するが、家畜 *Bruceella* 菌を主とするClassic *Bruceella* は検出せず、両者の鑑別が可能となった。[鈴木道雄、今岡浩一、前田健]

III. カプノサイトファーガ感染症に関する研究

1. カプノサイトファーガ感染症の調査研究

イヌ・ネコが保菌する *Capnocytophaga* 属菌は、ヒトがイヌやネコに咬傷・搔傷を受けた際に傷口から感染する。継続して実施している患者の発生状況調査では、これまでに国内で計 114 例(うち死亡 22 例)を把握した。このうち *C. canimorsus* 感染が 109 例(うち死亡 21 例)とその大半を占めていた。患者の年齢は 20~90 代で、40 代以上が 96%を占め、平均年齢は約 65 歳であった。また、性別は男性 84 例、女性 30 例で男性が 74%を占めた。症状は敗血症が 80%超を占め、報告されている患者の大半が重症例であった。国内臨床分離株の 9.2%がクラス D の β -ラクタマーゼを保有していた。ネコ口腔から分離された新規の *Capnocytophaga* 属菌について、*C. felis* と命名して論文発表し、正式な新菌種として認められた。[鈴木道雄、今岡浩一、前田健]

IV. 痘そうワクチンに関する研究

1. 細胞培養弱毒性痘そうワクチンの特性解析および品質試験法に関する研究

Lister 株から低温馴化により LC16 株、LC16m0 株を経由して樹立された安全性の高いワクチン株である LC16m8 株は、継代培養するとブランクサイズのやや大きい LC16m0 型 (medium size plaque; MSP) のウイルスが出現する。これまでに、痘そうワクチンの MSP 検出に mutation specific primer による qPCR と次世代シーケンズ解析により MSP 検出および定量化に有用であることが考えられた。その検出を更に簡便化すると共に、ウイルスレベルで検出できる検出系を検討した。Vaccinia virus の B5R は 317 個のアミノ酸からなり、signal peptide (1-19aa), short consensus repeats (SCR) I (20-71aa), SCR II (75-124aa), SCR III (129-181aa), SCR IV (185-236aa), transmembrane domain (276-303aa) の domain から構成されている。痘そうワクチン株である LC16m8 の B5R は途中で 1 塩基欠損により中止コドンは生じるために、92 個のアミノ酸からなる。MSP はその欠損部位周辺に 1 塩基挿入、4 塩基挿入、2 塩基欠損により open reading frame が復帰し、全長の B5R を有する。そのため、Vaccinia virus, LC16m0, MSP は全長の B5R 遺伝子を有し、相同性が高い。そこで、LC16m8 及び MSP の B5R の共通抗原として、1-92 アミノ酸の中で 3 種類の抗原 (Ag1:20-75aa, Ag2-1:46-86aa, Ag2-2:51-86aa) の作製を計画した。また、B5R の細胞外ドメインは short consensus repeats 構造が繰り返されているため、その部位を除いた 237-275aa の部位を MSP 特異的抗原 (Ag3) としてデザインした。それぞれのアミノ酸の N 末端に

GST タグを付与する大腸菌用発現プラスミド pGEX-6p-1 に各種 PCR 産物を挿入し大腸菌発現及び精製により、4 種類の抗原を作製した。LC16m0-B5R に対するウサギ由来抗血清、LC16m8-B5R に対するウサギ由来抗血清を用いて、作製した抗原の特異性を immunoblot 解析により確認した。LC16m0-B5R に対するウサギ由来抗血清は B5R 全長に対する抗体であるため、LC16m8 及び MSP 共通抗原を検出できる。LC16m0-B5R に対するウサギ由来抗血清による immunoblot 解析では 4 種類全ての抗原において陽性反応が確認された。また、LC16m8-B5R に対するウサギ由来抗血清を用いた immunoblot 解析では Ag1, 2-1 及び 2-2 においては予想されたサイズでバンドが確認されたが、Ag3 においてはバンドが認められず、予想通りの結果となり、Ag1, 2-1, 2-2 及び 3 において抗原の特異性は確認された。

一方、天然痘ウイルスがバイオテロに用いられる可能性があることから、痘そうワクチン接種者と感染者が鑑別できる診断系の確立も必要である。その診断系は最近再流行しているサル痘ウイルスや牛痘ウイルスも vaccinia virus の B5R と相同性が高く、これらが検出できる診断法にもなり得る。今回作製できた 4 種類の抗原はより簡便化された MSP 検出系のウサギ由来抗血清作製の抗原にもなるが、バイオテロに用いられる可能性のある天然痘ウイルス感染者と痘瘡ワクチン接種者を血清学的に鑑別できる抗原としても利用可能である。現在は作製できた 4 種類の抗原をウサギに接種し、それぞれ特異的抗血清を作製中である。[Milagros Virhuez Mendoza、朴ウンシル、前田健]

V. 動物由来感染症に関する研究

1. 遺伝子型による SFTSV の病原性相違検索に関する研究

これまでネコを用いた SFTSV 感染実験からネコはヒトと同様に SFTSV 感染するが、ヒトより重篤化することが分かっている。しかし、感染させた SFTSV の株によって病原性に相違が確認されたため、致死性のマウスモデルを用いて、その原因を検証した。IFN α R1 遺伝子欠損 (IFN α R1 K0) マウスは SFTSV 感染の致死性のモデルとして用いられる。SFTS 患者から分離された遺伝子型 J1 に属する SPL010 はネコ及び IFN α R1 K0 マウスとも感染 5 日目 (5 dpi) から体重減少が認められ、7-8 dpi では生存率が 0-30%になる。この時期には白血球減少、血小板減少も認められ、病理組織学的所見では頸部リンパ節、鼠径リンパ節、腸間膜リンパ節の腫大が観察され、ウイルス抗原も陽性を示す。しかし、SFTS 発症ネコから分離された遺伝子

型 C5 に属する Cat#1 を感染させたネコ及び IFN α R1 K0 マウスは上記の症状や所見は認められない。SFTSV に対する IgG や中和抗体力価の上昇は認められ、感染は成立している。そこで、遺伝子型 J1、C4、C5 に属する複数の SFTSV を IFN α R1 K0 マウスに感染させ、50%致死容量(LD₅₀)を測定した。その結果、遺伝子型 J1 及び C4 に属する SFTSV は高い致死率を示し、遺伝子型 C5 に属する SFTSV は低い致死率を示した。しかし、C5 の中でも J1 と同様に高い致死率、低い LD₅₀ を示す株が確認され、遺伝子型というよりは SFTSV の株、そのものに病原性の相違を現す原因があると考えられた。現在、その原因遺伝子を検索するために、reverse genetics による SPL010 株及び Cat#1 株のキメラウイルス作製を試みている。[朴ウンシル、立本完吾、石嶋慧多、宇田晶彦、野口章、黒田雄大、加来義浩、奥谷晶子、今岡浩一、前田健;森川茂、渡辺俊平(岡山理科大);下島昌幸、黒須剛、吉河智城、西條政幸(ウイルス第一部)、永田典代、岩田(吉河)奈緒子、和田雄治、鈴木忠樹(感染病理部)、長谷川秀樹(インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター)、網康至、花木賢一(安全実験管理部)]

2. ネコの新型コロナウイルス感染症に関する研究

国内外に COVID-19 患者のペットから新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の遺伝子が検出される事例が報告された。更に、野生動物や動物園で飼育されている動物の SARS-CoV-2 自然感染事例も相次いで報告され、動物の新型コロナウイルス感染症として検証することが目的である。ネコに 10²、10⁴、10⁶ TCID₅₀を接種した結果、感染後 7 日目(dpi)まで鼻腔、口腔から感染性のあるウイルスを排泄することが分かった。SARS-CoV-2 に対する中和抗体が上昇する時期とウイルスが減少する時期が一致することから、中和抗体などの免疫からウイルスが排除されることが分かった。呼吸器症状や消化管症状は認められなかったが、肺組織からはウイルスの抗原及び軽度の炎症細胞浸潤が観察され、ネコは SARS-CoV-2 感染によって COVID-19 患者ほど重症化はしないことが推測された。しかし、10² TCID₅₀ の少量のウイルス感染によっても大量のウイルスを排泄し、一部のネコは直腸からも持続的に感染性のあるウイルスを排泄することが分かったため、コロナ渦でネコが感染源になるリスクがあることが示唆された。ネコは SARS-CoV-2 感染により重症化はしないが、感染源になり得るため、注意喚起が必要である。また、ネコは自然感染モデルや COVID-19 の治療薬及びワクチン開発のモデルにもなり、現在も研究を

進めている。[朴ウンシル、黒田雄大、宇田晶彦、加来義浩、奥谷晶子、立本完吾、石嶋慧多、前田健 (獣医科学部);網康至(安全実験管理部)、白倉雅之、鈴木康司、長谷川秀樹(インフルエンザウイルス研究センター);原田俊彦(安全実験管理部);相内章、志和希、岩田奈織子、永田典代、鈴木忠樹(感染病理部)]

3. Ama ウイルスに関する研究

国内のダニから分離された新規オルソナイロウイルスである Ama ウイルスの病原性に関する感染実験を実施した。病原性が不明であるため、様々なウイルスの致死モデルとして知られている IFN α R1 K0 マウスに 10³ ffu の Ama ウイルスを感染させた。感染後 3 日目、5 日目に採血し、ウイルスゲノム検出を試みた結果、3 日目では 13 copies/ μ l のウイルスゲノムが検出され、ウイルス血症が確認されたが、5 日目では検出されず、ウイルスが排除された可能性が考えられた。更に、Ama ウイルスに対する IgG の力価を蛍光抗体法により測定した結果、感染後 21 日目では 10,000 倍まで上昇していることが分かった。しかし、体重減少等の症状は認められなかったため、Ama ウイルスは IFN α R1 K0 マウスでは病原性を示さないことが明らかとなった。現在、Ama ウイルス感染 IFN α R1 K0 マウス体内のウイルス抗原を免疫組織化学染色により確認するために、ウサギ由来の抗血清作製を計画している。近年新規ウイルスが相次いで報告される中で、病原性不明の感染症に備えてこのような実験体制を確立することはこの研究の一つの意義である。[朴ウンシル、立本完吾、前田健;小林大介、伊澤晴彦(昆虫医科学部)]

VI. 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)に関する研究

1. 伴侶動物における SFTS の調査研究

国内の伴侶動物における SFTS の発生状況を把握することを目的として、2017 年から継続して SFTS ウイルス遺伝子検出と抗 SFTS ウイルス抗体検出を実施している。本年度においては、SFTS 疑いのネコ 123 例、イヌ 32 例について検査を実施し、ネコ 23 例、イヌ 1 例が SFTS と確定診断された。累積した症例から、SFTS 発症イヌではヒトと異なり高 CRP 値を呈すること、ネコと同様に高い死亡率(8 例中 4 例、50%)を示すことが明らかになった。[石嶋慧多、立本完吾、井上雄介、原田倫子、朴ウンシル、前田健]

2. SFTS ウイルスの系統解析

伴侶動物由来の SFTS ウイルス 77 株について M 分節の末端領域を除く全塩基配列を決定し、既報のウイルス株と合わせて系統解析を実施した。既知の分類と同様、日本の遺伝子型 (J1-3) と中国の遺伝子型 (C1-5) に分類された。日本の SFTS ウイルスの大部分は J1 型に属していた。日本のネコから分離された J1 型の SFTS ウイルスは韓国のヒト由来株と 99.9% 以上の相同性を示していた。他の遺伝子型はそれぞれ地域性のある分布を示したが、C4 型のネコ由来のウイルス株は、浙江省・韓国由来株と高い相同性 (99.4% 以上) を示した。[石嶋慧多、朴ウンシル、立本完吾、前田健]

3. 流行地におけるイヌの血清を用いた ELISA 系確立

国内の SFTS 流行地で症状と関係なく採取された血清 199 検体について、中和試験を実施した。その結果、13 検体が中和抗体価 10 倍以上と判定された。IgG 検出 ELISA を実施し、ROC 解析を実施した結果、カットオフ値を OD 値 > 0.129 と設定したときに、感度=特異度=92.31% で IgG 陽性検体を検出可能だった。IgM 検出 ELISA については、遺伝子検査の結果と比較して ROC 解析を実施したところ、カットオフ値を OD 値 > 0.645 と設定することで、特異度 100% で検出可能であった。[立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田健]

4. 山口県のシカ、イノシシにおける SFTS ウイルス中和試験の実施

2009 年から 2019 年に山口県内で捕獲されたシカ 789 頭、イノシシ 517 頭の血清を用いてウイルス中和試験による抗 SFTSV 抗体調査を実施した。血清 10 倍希釈において、シカで 789 頭中 510 頭 (64.6%)、イノシシで 517 頭中 199 頭 (38.5%) が中和抗体を有していた。捕獲年別でシカでは 2009 年から 2012 年まで約 40% の抗体陽性率を示したが、2013 年以降上昇し、2015 年以降は約 80% 以上の抗体陽性率を維持した。イノシシでは 2014 年まで 20% から 30% の抗体陽性率が 2015 年に約 60% まで上昇し、その後 40-60% を推移した。山口県においても SFTSV の流行状況に変化が起きていることが分かった。[立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田健]

5. 国内のシカ、イノシシにおける SFTS ウイルスの血清疫学調査

今年度、改めてシカおよびイノシシにおける ELISA 法について、ウイルス中和試験との比較により、カットオフ値を算出した。その結果、シカでは OD 値: 0.390、イノシシでは OD 値:

0.160 が求められた。算出したカットオフ値を用いた集計結果では、日本のシカ 3443 頭中 864 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 25.1% であった。イノシシにおいては 2110 頭中 626 頭が抗 SFTSV 抗体陽性となり陽性率は 29.7% であった。ヒトや動物での SFTS 発症例が数多く報告されている関西・中国・四国・九州ではシカ、イノシシ共に抗体陽性率が高い。それに対し、症例報告がない関東以北においては陽性率が低く示された。しかし、関東地方の一部地域においてはシカで 2015 年 (7%)、2016 年 (20%)、2017 年 (19%)、2018 年 (37%)、2019 年 (32%) と抗体陽性率が上昇している地域も認められている。[立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田健]

6. 家畜動物を対象とした SFTS ウイルスの疫学研究

中国地方において飼育される飼養牛を対象に ELISA 試験とウイルス中和試験を用いた抗体疫学検査を実施した。その結果、133 頭中 1 頭 (0.8%) の牛が抗 SFTSV 抗体を保有していた。中国の疫学研究では牛をはじめ山羊や羊などの反芻家畜動物において高い抗体陽性率が報告されていたが、それらに比べ、国内の飼養牛においては低い抗体陽性率を示すことが分かった。[立本完吾、石嶋慧多、朴ウンシル、前田健]

VII. 狂犬病に関する研究

1. わが国の狂犬病予防体制の推進のための研究

狂犬病予防体制推進の方策を検討するために、フランス、イギリス、オーストラリア、台湾等の関係機関における取り組みと国内の狂犬病体制整備事業を比較することによって日本で必要と考えられる狂犬病サーベイランス、検査、情報収集等の体制整備強化方法の検討を行った。いずれの国も狂犬病に対するリスク評価とリスク管理に基づいたヒト対策と動物対策が準備されており、医師および獣医師の定期的な研修会開催等による One Health 視点での取り組みの継続も行われていた。特に、コウモリ等の野生動物に対するサーベイランスが進展しており、狂犬病の感染疑い患者に対する発症予防 (PEP) の徹底とともに、動物による咬傷患者データベース、野生動物の死亡個体調査、コウモリの狂犬病サーベイランス等によって、ヒト対策 (発症予防の徹底) を軸に野生動物を含めたサーベイランス強化が One Health 体制整備の要として行われていた。[井上智、堀田明豊、野口章、前田健; フランス・パスツール研究所狂犬病ユニット、フランス食品環境健康安全機構狂犬病野生動物ナンシーラボラトリー、英国動物衛生獣医診断機構、

獣医科学部

オーストラリア疾病予防センター、台湾動物衛生研究所、台湾 CDC、台湾大学獣医大学院]

2. アジアの狂犬病ラボラトリーネットワーク促進と共同研究体制強化等に関する研究

フィリピン熱帯医学研究所(RITM)とともに動物の洞毛等神経組織を利用した新規病理診断法の開発およびバーチャルスライド等を利用した遠隔地とのオンライン研修及び手技伝達方法の構築検討、ベトナム国立衛生疫学研究所(NIHE)の専門家とともにアジアにおけるドッグマーケットの狂犬病リスクに係る調査、台湾で報告された野生動物の狂犬病侵淫に係るサーベイランスの現状、チェンマイにおける狂犬病施策の課題等についてオンラインを介した知見の共有と分析を継続した。[朴 天鎬(北里大学);Daria Manalo(フィリピン熱帯学研究所);Nguyen Vinh Dong、Nguyen Tuyet Thu、Ngo Chau Giang、Hoan Thi Thu Ha(ベトナムNIHE);費昌勇(台湾大学獣医大学院);Wilaiwan Petsophonakul(タイ CMU);井上智、野口章、奥谷晶子]

3. 日本における野生動物等の狂犬病サーベイランス構築と普及に係る調査研究

本年度は新型コロナウイルス感染症の流行拡大を受けて、Zoom による遠隔配信で第 8 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会を行った。宮崎大学大動物手術室備付け高解像度カメラで病理解剖手技を配信して鮮明かつ詳細な映像を遠隔地参加者と共有しつつ逐次解説を行うことで参加者の理解を促すことにより参加者から大変分かりやすいとの高評価を得ることができた。また、野生動物を対象にした狂犬病のモニタリング方法を構築するために有害捕獲およびロードキル野生動物(タヌキ、アナグマ)の微生物検査成績を学会で報告した。[兼子千穂、山田健太郎、三澤尚明(宮崎大学);有川玄樹(宮崎県);井上智、堀田明豊、野口章;伊藤睦代(ウイルス第一部)]

4. 狂犬病陽性患者からの狂犬病ウイルスの分離

海外から渡航した狂犬病疑い患者の行政検査を令和 2 年 5 月に行い狂犬病陽性であることが確定された。この患者検体を哺乳マウスの脳内に接種し狂犬病ウイルスの分離に成功した。また遺伝子解析の結果、フィリピンで流行しているクラスターに属した。[野口章、井上智、加来義浩、奥谷晶子、原田倫子、前田健]

5. 従来のヒト用 HEP-Flury 株狂犬病ワクチンの改良のための研究

日本国内ではヒト用狂犬病ワクチンとして HEP-Flury 株由来ワクチンを使用・製造してきたが、初代ニワトリ胚培養細胞を用いているため、大量生産を妨げる製造コストが高く、国内生産は衰退している。そのため、ワクチン製造に優れた Vero 細胞に馴化した HEP-Flury 株由来狂犬病ワクチンを作製し、また接種方法を検討することで、安価で予防効果の高いワクチンへと改良することを目的とする。本年度、Vero 細胞で HEP-Flury 株の継代を重ねた結果、10 継代以降増殖性が上昇し、20 継代以降ウイルス増殖性がさらに速くなった。作成株の遺伝子解析を実施したところ、増殖性の良くなった 10 代継代株で 3 カ所のアミノ酸変異、更に増殖がよくなった 30 代継代株で更に 4 カ所のアミノ酸変異が認められた。親株と馴化株を比較したところ、中和活性に差は認められなかった。今後、リバーズジェネティクス法にて Vero 細胞への馴化に関連する遺伝子を解明するとともに、馴化株を用いた不活化ウイルスを作成し、接種経路・回数を検討する予定である。[原田倫子、野口章、前田健]

6. 街上毒株 Toyohashi 株の固定毒化の解明のための研究

2020 年 5 月に国内で 14 年ぶりに狂犬病患者が報告され、狂犬病ウイルス街上毒株の Toyohashi 株を分離した。Toyohashi 株を系統解析の結果フィリピンで認められている株と類似していた。街上毒株の固定毒化はパスツールの時代より実施されているが、その固定毒化過程は明らかとなっていない。そのため、分離した Toyohashi 株を *in vitro* と *in vivo* で継代・馴化することでそれに伴う固定毒化過程を解明することを目的とする。本年度は *in vivo* 実験として Toyohashi 株を乳飲みマウスで 2 代脳内継代した後、4 週齢 ICR マウスで 8 代脳内継代した。また、*in vitro* 実験としてマウスで 2 代脳内継代した Toyohashi 株を MNA 細胞・Vero 細胞に接種・継代した。今後、遺伝子解析を実施し、アミノ酸変異等の有無を明らかとし、病原性の変化等を解析する予定である。[原田倫子、野口章、井上智、前田健]

7. 街上毒株 Toyohashi 株の G タンパクを組み込んだワクシニアワクチンの作製

海外において野生動物からの狂犬病ウイルスの感染は多く、野生動物における狂犬病ワクチンとして狂犬病ウイルス G タン

パクを組み込んだ経口ワクシニアワクチンが使用されている。しかし、使用されているワクシニアウイルスは Copenhagen 株という病原性を保有している株であるため、ヒトが接触した際にワクシニアウイルスに感染し皮膚病変を呈したといった報告がある。そのため、病原性の低いワクシニアウイルスに狂犬病ウイルス G タンパクを組み込んだワクシニアワクチンを開発する必要がある。本研究は病原性の低い LC16m8 に Toyohashi 株の G タンパクを組み込んだワクシニアワクチンの開発を目的とする。現在、LC16m8 に Toyohashi 株の G タンパクを組み込んだ recToyohashi G LC16m8 を作成した。今後、街上毒株との攻撃試験を実施し、ワクチンとしての効果を解析する予定である。[原田倫子、朴ウンシル、前田健]

8. 狂犬病ウイルスの新規リニアエピトープの解析

狂犬病ウイルスのリニアエピトープを用いた新たな抗体検査系の確立を目指す。狂犬病ウイルス HEP-Flury 株の G 蛋白質細胞外ドメインを 100 アミノ酸ずつ 5 つのペプチドに分け大腸菌で発現させた。ペプチド発現大腸菌溶解液を抗原とし、ウェスタンブロットでワクチン接種済みの人の血清を当てたところ 2 つのペプチドで反応を示した。1 つはまだ報告がない領域のエピトープであり、今後正確なエピトープの位置を決定し、ペプチド ELISA やルミネックスを用いた抗体検査系の確立へ応用する。[井上雄介、加来義浩、野口章、井上智、前田健]

9. 狂犬病ウイルスの増殖を阻害する抗 P 蛋白質 intrabody 発現ナノ粒子の in vivo 接種

狂犬病ウイルス (Rabies virus: RABV) は、主に感染動物の咬傷により伝播し、潜伏期を経て神経上行性に中枢神経に侵入後、狂犬病を発症する。感染しても、速やかに予防的なワクチンを接種することで発症を阻止できるが、ひとたび発症すると確実な治療法はなく、致死率はほぼ 100% である。これまで RABV の P 蛋白質 (RABV-P) に対する抗体の single chain variable fragment (scFv) を、脳組織の神経細胞において細胞内発現抗体 (intrabody) として発現させ、発症後の治療に応用することを目指してきた。本年度は、マウス生体における遺伝子の導入・発現確認のため、scFv 遺伝子を封入した、組成の異なる 4 種類のナノ粒子液を、マウス 2 匹の左右後肢の腓腹筋および 25 匹の鼻腔に接種した。感染病理部の協力のもと、scFv 発現状況を解析した。腓腹筋については、穿刺痕周囲の組織を採取し、免疫染色後に観察した。その結果、いずれも接種部位周辺の線維芽細胞、筋細胞、脂肪細胞等

に scFv の発現が確認された。経鼻接種後の鼻腔および脳組織の scFv 発現状況については、現在も解析を継続している。[加来義浩、野口章、井上智、前田健; 飛梅実 (感染病理)]

VIII. リッサウイルス感染症に関する研究

1. リッサウイルスのシュードタイプウイルスの作製

現在世界中で 17 種のリッサウイルスが同定されている。検査系の確立の為に水疱性口炎ウイルス (VSV) を用いたシュードタイプウイルスの作製を行った。7 種のリッサウイルス、狂犬病ウイルス (RABV)、オーストラリアコモリッサウイルス (ABLV)、ヨーロッパコモリッサウイルス 1, 2 (EBLV-1, EBLV-2)、ドゥベンヘイグウイルス (DUVV)、モコラウイルス (MOKV)、ラゴスコモリウイルス (LBV) のシュードタイプウイルスの作製に成功した。狂犬病ワクチン接種済みのイヌの血清を用いて中和試験を行ったところ、同じフィログループ 1 に属する 5 種 (RABV, ABLV, EBLV-1, EBLV-2, DUVV) で交差反応が見られた。フィログループ 2 に属する MOKV, LBV ではほとんど交差反応は見られなかった。今後、各リッサウイルス G 蛋白質に対する抗血清の作製と感染性ウイルスを用いた中和試験を行い、シュードタイプウイルスの性能を評価する。更にシュードタイプウイルスを海外へ輸送し、海外における野生動物の抗体保有調査も行う予定である。[井上雄介、加来義浩、野口章、井上智、前田健]

IX. ヘニパウイルス感染症に関する研究

1. 地方衛生研究所で実施可能なニパウイルス診断法の構築

ニパウイルス (NiV) 感染症は、予防法や治療法がなく致死率も高いことから、患者が発生した場合の健康被害や社会・経済への影響は甚大なものとなる。疑い事例発生時に早期診断を実施することで、適切な患者対応を早め、二次感染を防ぐことを目的に、地方衛生研究所 (地衛研) で実施可能な迅速・安全な診断法 (抗体、抗原および遺伝子検出) の開発・普及を目指している。今年度実施した内容を以下に示す。1) soluble NiV-G (NiV-sG) 蛋白質の作製: 抗 NiV-G 抗体検出イムノクロマト系の構築に供することを目的に、NiV-G の細胞質内ドメインおよび膜貫通ドメインを欠失させ、His/S-tag を結合した NiV-sG の作製を行った。NiV マレーシア株 (NiV-M) およびバングラデシュ株 (NiV-B) の sG 発現プラスミドを HEK293T 細胞に transfect し、2 日後の上清を回収し、Ni-NTA ビーズを用いて精製した。SDS-PAGE により、NiV-M-sG, NiV-B-sG に由来する 65-70kDa のバンドを確認した。2) 抗 NiV-G モノクロ

ーナル抗体 (MoAb) の作製: NiV-M-sG 発現プラスミドをマウス 4 匹に 2 週間毎に免疫し、経時的に採血を行った。シュードタイプ VSV を用いた中和試験により抗体価を測定したところ、抗体価の上昇を確認した。上述の NiV-sG で最終免疫を実施した後、もっとも中和抗体価が高いマウスから脾臓を摘出し、ハイブリドーマを作製する。3) NiV-N 検出サンドイッチ ELISA の構築: 国立感染症研究所・獣医科学部で保有している複数の抗 NiV-N MoAb の反応性を IFA で比較し、サンドイッチ ELISA に使用する MoAb を選択した。[加来義浩、野口章、井上智、前田健]

2. シュードタイプ VSV を用いたコウモリ血清のヘニパウイルス抗体調査

ニパウイルス (NiV)、ヘンドラウイルス (HeV) は致死率が高いうえ、治療法・ヒト用ワクチンが開発されていないことから、国際的に BSL4 病原体に分類されている。これまでの研究で NiV-F/G および HeV-F/G 蛋白質を外套したシュードタイプ VSV (VSVp) を用いて、ヘニパウイルスの鑑別診断が可能な中和抗体測定法 (SNT) を構築した。今年度は、昨年度より継続して、本 SNT を用いて、ヘニパウイルス浸潤地域であるフィリピンで採取されたコウモリ血清の抗体調査を実施した。岡山理科大学の渡辺俊平博士より提供されたコウモリ類の血清 160 検体を SNT に供したところ、陽性反応を呈した検体は確認されなかった。これらの検体は、次年度以降、NiV-G 発現 HEK293T 細胞の可溶性抗原を用いた、抗 NiV-G 抗体検出 ELISA 法の特異性評価に使用される。[加来義浩、前田健]

X. 炭疽菌およびその類縁菌に関する研究

1. ベトナム北部で分離された炭疽菌の遺伝学および血清学的解析について

ベトナム衛生研究所 (National Institute of Hygiene and Epidemiology: NIHE) との共同研究において、北部の炭疽発生地域における患者、患畜および環境検体からの確実な病原体分離を実施するため地域拠点研究所および NIHE の実験室を対象とした病原体分離のための使用培地の選定および、遺伝子検査系のための使用試薬等の技術移転を行った。また、炭疽に罹患したヒト患者からの血清および非発生地域からのヒト血清を用いて、抗体獲得状況等を把握するための血清疫学解析を行うため、炭疽菌毒素抗原および試薬の調整を行った。[奥谷晶子、井上智、前田健; 森川茂 (岡山理科大学)、Ha Hoang (ベトナム NIHE)]

2. 国内に生息する野生動物腸内細菌叢等のメタゲノム解析

国内に生息する各種の野生動物の便・腸内容物や周辺環境土壌からメタゲノム解析を行い、動物体内や環境中検体からの潜在的な感染リスクを推定するため、和歌山県内で採取されたアライグマ (n=16)、ハクビシン (n=2)、アナグマ (n=10) の糞便を回収し糞便から直接 DNA および RNA を抽出した。DNA は 16S rRNA 遺伝子によるメタゲノム解析に RNA はショットガン解析を行うための検体調整を行った。また、東京大学医学部附属病院より分与された入院患者の血液検体から分離されたセレウス菌 30 株について全ゲノム解析を行い、これまでに解析してある土壌、食中毒由来セレウス菌の全ゲノム配列との比較解析を行った。[奥谷晶子、前田健、森川茂 (岡山理科大学)]

XI. ブータンにおける人獣共通感染症の浸潤調査

ブータン Royal Centre for Disease Control (RCDC) および National Centre of Animal Health (NCAH) とともに、同国における 1) 狂犬病、2) クリアコンゴ出血熱 (CCHF)、3) 炭疽、4) コウモリ由来感染症の浸潤状況の把握および有効な防疫策の構築を目的とした共同研究を進めている。共同研究を円滑に進め、将来的に上記以外の感染症を対象にすることも視野に入れ、2019 年度に感染研・獣医科学部/RCDC/NCAH の 3 者で MoU を締結した。本年度の各テーマの実施内容を以下に示す。1) 狂犬病: ブータン国内のワクチン接種者 (防疫担当者等) の中和抗体保有調査を実施するため、日本より狂犬病ウイルス (RABV) 抗体簡易検出法 (RAPINA 法) の検査キットを送付した。ブータン側で、抗 RABV ヒト免疫グロブリンを RAPINA に供し、キットの反応性・感度を確認した。2) CCHF: ブータン南部の家畜飼養者における CCHF ウイルスの浸潤状況調査を実施するにあたり、調査対象となる地域および農家の選定を継続的に行った。ブータン南部のインド国境付近の Chukha, Samtse, Sarpang の 3 州において、各州からヤギ 400~500 頭ずつの採材を完了した。3) 炭疽: 土壌検体からの炭疽菌および類縁菌の分離に用いる培地や培養条件等の技術および資材支援を継続的に行った。ブータン側でティンブー近郊の複数の地点から土壌の採取を行った。4) コウモリ由来感染症: 各種病原体の抗体調査を実施するにあたり、戸山庁舎・動物実験施設においてルーセットオオコウモリ 2 頭を飼育し、採血法を検討した。ブータン側で、コウモリ類の分布域に関する情報を得るため、複数の国立公園のレンジャーにアンケート

を実施した。[加来義浩、奥谷晶子、前田健]

XII. 野兎病に関する研究

1. 日本分離野兎病菌の全ゲノム解析

2008 および 2009 年に国内の斃死ノウサギから分離された野兎病菌 KU-1 および NVF1 株の全ゲノムを Pacbio の RS II sequencing platform により解析し、決定した。両株の GC 含量はともに 32.18% で、全長はそれぞれ 1,907,828 および 1,907,706 bp であった。これらゲノム配列は DDBJ に登録し、それぞれ Accession numbers AP023460 および AP023459 として公開された。これらの 2 株のゲノム配列は極めて相同性が高く、他の公開されている *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* biovar *japonica* のチベット由来 T01 株やトルコ由来 PHIT-FT049 株と近いことが示された。これらのデータは今後の国内分布野兎病菌の分子疫学解析の発展に有用である。[堀田明豊、藤田修、鈴木道雄、森川茂、宇田晶彦、前田健]

2. モノクローナル抗体による野兎病菌の感染防御に関する研究

抗野兎病菌マウスモノクローナル (MAbs) による感染防御試験を試みた。マウスの鼻腔より野兎病菌を 10^3 CFU 接種し、その 2 時間後に $100 \mu\text{g}$ の MAbs を腹腔内に接種したところ、3 種のリポ多糖体 (LPS) を認識する MAbs 接種群の生残期間が有意に延長した。これら 3 種の MAbs を、野兎病菌 10^3 CFU を皮内接種したマウスの腹腔に同様に接種したところ、菌凝集能を有す MAbs M14B11 接種群が 50% (2/4) 耐過し、他の 2MAbs 接種群の生残期間の延長が認められた。MAbs M14B11 (1, 10, 100, 1,000ng) と野兎病菌 10^3 CFU の混合液を皮内に同時接種したところ、1,000ng 接種群に生残期間の延長、耐過個体 (1/8) が認められたが、有意差は認められなかった。これより菌凝集力価を有す抗体の感染防御への関与が考えられたが、マウスにおける野兎病の耐過には相当量の抗体の持続的供給が必要と考えられた。[堀田明豊、藤田修、宇田晶彦、鈴木道雄、森川茂、前田健]

XIII. ウェストナイル熱に関する研究

1. 死亡動物調査システムの構築と運用

人獣共通感染症引き起こす病原体の拡散と野生動物大量死は、密接にかかわっている可能性が指摘されている。そこで、自治体、検疫所、および自衛隊の協力を得て、カラスを含む

鳥類や、その他の野生動物 (コウモリ、ネコ、イヌ、シカ、クマ、イノシシ、アライグマ、タヌキ、キツネ、イタチ、ハクビシンなど) の死亡個体数調査を、DAS (Dead Animal Surveillance) システムを用いて実施してきた。令和 2 年度は、DAS システムに登録されたデータを用いて、野生動物の死亡個体数の変動を解析した。この結果、10 月のカラスの死亡個体数において、一過性の有意な増加が観察された。このカラスの死亡個体数急増は、平成 30 年度から令和 2 年度までの 3 年間の秋に、特定の自治体で観察された現象であることから、当該自治体と連携して原因解明が必要であると考えられた。また本年度は、新興人獣共通感染症である重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスのイヌやネコにおける疫学調査支援のためのシステムの開発も行った。[宇田晶彦、前田健]

XIV. 動物由来ヘルペスウイルスに関する研究

1. サルにおける B ウイルス特異抗体検出系の構築

B ウイルス特異抗体検出系をマルチプレックスビーズアッセイにより構築し、すでに中和抗体の保有状況が判明している国内のニホンザル、カニクイザルの血清を用いて評価を行った。B ウイルスの糖蛋白 gD の 363-394 ペプチドが最も特異性が高く、HSV-1 に対する中和抗体価と高い相関を示した。得られた蛍光強度の S/N 比の Cut-off 値を 3.048 に設定した場合、その感度・特異度は 86.67% だった。また、このペプチドは B ウイルス患者血清中の抗体とも反応することが確認された。[石嶋慧多、宇田晶彦、前田健； 山田壮一、福士秀悦、西條政幸 (ウイルス第 1 部)； 藤井ひかる、森川茂 (岡山理科大学)]

XV. 新型コロナウイルスに関する研究

1. ヒト ACE2 トランスジェニック (hACE2 Tg) マウスの SARS-CoV-2 感受性試験

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の宿主域は比較的広く、サル、ゴールデンハムスター、ミンク、フェレット、ネコ等で感染が成立することが知られている。しかし、2020 年初旬に分離された SARS-CoV-2 株をマウスに接種した場合、一過性のウイルス増殖は見られるものの臨床症状を示さないことから、マウスはモデル動物として利用されてこなかった。一方で、SARS-CoV-2 のレセプターであるヒト ACE2 (hACE2) を発現するトランスジェニック (Tg) マウスであれば、SARS-CoV-2 への感受性を示すと期待されていた。そこで、hACE2Tg マウスを用意し、SARS-CoV-2 WK521 株に対する感受性試験を実施した。この結果、

hACE2Tg マウスは、極めて微量のウイルス量 (10 TCID₅₀/匹) で致死感染を引き起こすことが明らかとなり、COVID-19 の感染モデル動物として有用である可能性が示唆された。[宇田晶彦、野口章、朴ウンシル、奥谷晶子、加来義浩、黒田雄大、Milagros Virhuez Mendoz、前田健]

2. 不活化野兔病に対するアジュバントの感染防御効果確認試験

免疫原性が乏しい不活化野兔病菌に対するアジュバントの感染防御効果を確認するために、10 種類のアジュバントと不活化野兔病菌の混合液をマウスに皮下免疫を 3 回行った。この結果、AS01 相当 (liposome/ MPL/ QS21) 処置群では液性免疫が、ALUM 処置群と MF59 相当 (Squalene/ Tween 80/ Span 85) 処置群の一部のマウスでは細胞性免疫が誘導されていた。しかし、野兔病菌強毒株 SCHU P9 による攻撃試験を行ったところ、AS01 相当処置群で 12.5% (1/8 匹) のマウスが生残したのみで、その他 9 種類の処置群のマウスは全て死亡した。このことから、不活化野兔病菌ではアジュバントを添加しても、必要十分な液性免疫および細胞性免疫がマウスに付与されていない可能性が示唆された。[宇田晶彦、朴ウンシル、黒田雄大、Milagros Virhuez Mendoz、立本完吾、石嶋慧多、堀田明豊、前田健]

3. COVID-19 患者の飼育するペットにおける感染

COVID-19 患者の飼育するイヌおよびネコのぬぐい液を用いて遺伝子検出を行ったところイヌ 7 頭、ネコ 6 頭が遺伝子陽性となり、最長でイヌは 10 日間、ネコは 15 日間遺伝子が検出された。十分に量がある検体に関してはウイルス分離を行い、ネコ 1 頭のぬぐい液から SARS-CoV-2 が分離された。次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析の結果、イヌのぬぐい液由来 3 株、ネコのぬぐい液由来 1 株、ネコ由来分離ウイルス 1 株の全塩基配列の決定に成功した。これらの配列はすべて日本独自のクレードである Pango lineage の B.1.1.214 もしくは B.1.1.284 に属していた。このことは、国内のヒトからこれら動物にウイルスが伝播した可能性を示唆している。また今回調査した動物とその同居動物の血清を用いたウイルス中和試験により、SARS-CoV-2 に対する中和抗体価を測定した。その結果、イヌでは 4 頭中 3 頭が、ネコでは 8 頭中 7 頭が抗体陽性となった。本研究から、感受性が低いとされていたイヌでも感染が良く見られること、感染動物からヒトへの感染リスクがあるため取り扱いにより注意しなければいけないことがわかった。

[黒田雄大、山本つかさ、石嶋慧多、前田健]

4. 培養細胞馴化株の作出

感染研のリファレンス株である WK-521 株を Vero9013 細胞とマクロファージ系のネコ胎子由来 (fcwf-4) 細胞でそれぞれ継代・馴化させた株を作出した。作出した株の全塩基配列を次世代シーケンサーによって決定した。TMPRSS2 発現 VeroE6 細胞 Vero9013 細胞、fcwf-4 細胞におけるそれぞれの株のプラーク数を求めたところ、馴化株では親株である WK-521 株とは異なり、TMPRSS2 発現 VeroE6 細胞でのプラーク数よりも Vero9013 細胞でのプラーク数が多い傾向が見られた。また、Vero9013 細胞馴化株は fcwf-4 細胞でほとんどプラークを形成しなかったが、fcwf-4 馴化株は親株よりも fcwf-4 細胞でのプラーク形成能が高かった。ヒト型 ACE2 トランスジェニックマウスへの fcwf-4 細胞馴化株接種実験を行ったところ、ある株は親株より約 100 倍弱毒化していた。今後は、様々な培養細胞中での増殖性・実験動物回復期血清を用いた既存株との抗原性の比較を行う予定である。[黒田雄大、山本つかさ、朴ウンシル、宇田晶彦、前田健]

5. ORF7 遺伝子欠損株の解析

臨床検体から分離された ORF7 遺伝子欠損株とその親株の比較解析を行い、ORF7 遺伝子の機能解析を試みた。遺伝子欠損を RT-PCR で確認した後、7a 蛋白の発現の有無を IFA と感染ネコ血清を用いたウェスタンブロットで確認した。TMPRSS2 発現 VeroE6 細胞におけるプラークサイズを比較したところ、差は認められなかった。また、Vero9013 細胞と Calu-3 細胞における増殖曲線にも差は認められなかった。しかし、欠損株と親株を混合して Calu-3 に接種すると親株の割合が増加することがわかった。Vero9013 細胞ではこの現象が見られなかったため、これは 7a 蛋白の IFN 応答阻害能によるものと推測された。COVID-19 回復者血清を用いたウイルス中和試験を行ったが抗原性の違いは認められず、ORF7 遺伝子はウイルスの抗原性には関与しないことがわかった。[黒田雄大、朴ウンシル、宇田晶彦、前田健; 糸川健太郎、関塚剛史、黒田誠 (ゲノムセンター)]

6. 猫コロナウイルスとの交差反応性の発見

SARS-CoV-2 はヒトだけではなく様々な動物に感染することが知られている。そこで SARS-CoV-2 感染細胞ライセートを用いた ELISA による抗体診断がネコにおいて実用可能かどうかを

検討した。SARS-CoV-2 流行以前の血清 197 検体を検査すると 12 検体の吸光度が暫定的カットオフ値 0.5 以上となり陽性となった(陽性率 6.1%)。この陽性率は他のコロナウイルス感染に影響されていると考え、ネコにおいて主要なコロナウイルスである I 型猫コロナウイルス(FCoV)に対するウイルス中和試験を実施した。そうしたところ、中和抗体陽性が 73 検体あり、それらの SARS-CoV-2 に対する ELISA 平均吸光度は、I 型 FCoV 中和抗体陰性検体の ELISA 平均吸光度よりも有意に高値だった。したがって、I 型 FCoV 感染が SARS-CoV-2 に対する抗体を誘導していることが疑われた。そこで、I 型 FCoV 感染実験ネコ経過血清を用いて ELISA 試験を行った。4 頭中すべてで SARS-CoV-2 に対する抗体が検出され、最も長いもので 600 日以上も抗体が持続していた。また、発現タンパクを用いた ELISA の結果からは SARS-CoV-2 の N 蛋白だけではなく、驚くべきことに S 蛋白の RBD 領域にも交差反応することが明らかになった。しかし、SARS-CoV-2 の中和抗体陽性となる血清はなかった。ヒトにおいてウイルス中和試験との相関が非常に高く、抗体診断に用いられている Roche 社の cobas を用いて SARS-CoV-2 の N ペプチドに対する抗体の検出を試みたが、この系も I 型 FCoV 感染に影響されることがわかった。したがって、ネコにおいて最も確実な SARS-CoV-2 抗体検査系は中和試験であることがわかった。[黒田雄大、山本つかさ、朴ウンスル、前田健;鈴木忠樹(病理)、高橋宜聖(治ワク)]

XVI. E 型肝炎ウイルスに関する研究

1. E 型肝炎ウイルスの疫学調査

E 型肝炎ウイルスに対する抗体保有状況および E 型肝炎ウイルス感染状況の調査をイノシシおよびシカにおいて実施した。これまでに 15 県のイノシシ 2363 頭と 13 道県のシカ 1822 頭を調査した。その結果、イノシシにおいては 360 頭(15.2%)が抗体陽性であった。一方、シカにおいては 1 頭(0.1%)が陽性であった。遺伝子検出に関しては、イノシシ 1471 頭中 25 頭(1.7%)、シカ 1380 頭中 1 頭(0.1%)が陽性であった。イノシシにおける抗体陽性率に関しては、性別における違いは認められなかったが、体重が 30 kg 以下の個体は有意に陽性率が低かった。一方、遺伝子検出率は 30 kg 以下の個体が有意に高かった。このことは、30 kg 以下の個体が E 型肝炎ウイルスに感染していること、すなわち、子豚が HEV を保有しているリスクが高いことが示された。また、培養細胞に馴化した増殖性の速い HEV の作出にも成功した。マダ

ニ媒介性感染症で致死率が極めて高い重症熱性血小板減少症候群(SFTS)ウイルスのイノシシとシカにおける感染リスクを調査した結果、15 府県のイノシシ 2110 頭中 12 県の 626 頭(29.7%)、28 道府県のシカ 3443 頭中 23 府県の 864 頭(25.1%)から抗 SFTS ウイルス抗体が検出された。狩猟者は HEV のみならず SFTSV についても注意が必要である。[Milagros Virhuez Mendoza、立本完吾、前田健]

2. 迅速診断のための HEV の細胞馴化

HEV に関する研究や診断が進まないのは HEV の増殖が非常に遅いためである。分与していただいたウイルスは Alexander 細胞で 13 代継代したものであったが、感染後 28 日目ようやく 25 サイクルの PCR でバンドが検出された。Real-time PCR でも感染後 21 日目に検出されるのみであった。最初の頃は 6 週間に 1 回の継代などを繰り返した。2 年半で 20 回の継代に成功した。その過程で、P13 から P17 のウイルスは 25 サイクルの RT-PCR で検出されるのは、感染後 28 日であったが、P18-P30 は感染後 21 日、P31-34 は感染後 14 日目に検出されるようになった。理想は感染後 7 日目に検出されるウイルスの作製を目指したが、これ以上は難しいと判断し、20 代継代を加えた P34 で解析を進めることとした。P34 と P15 の Alexander 細胞での増殖性を定量 RT-PCR で比較した結果、P34 では 7 日目より 10^4 コピー/mL のウイルスが検出された。一方、P15 では 14 日目までウイルスは検出されなかった。馴化によるウイルスへの影響を比較した結果、カプシド蛋白の P ドメインに集中的に変異が観察された。この領域が培養細胞での増殖に重要である可能性が示唆された。[Milagros Virhuez Mendoza、前田健]

XVII. マダニ媒介性ウイルス感染症の疫学調査

タカサゴキララマダニより感染研の昆虫医科学部で分離され、ウイルス一部でマウスにおける病原性が評価された新規トーゴトウイルスである Oz ウイルス感染症に関して、山口県における疫学調査を実施した結果、ウイルス中和試験でヒト 24 名中 2 名、ニホンザル 40 頭中 19 頭、イノシシ 124 頭中 75 頭、シカ 76 頭中 50 頭が陽性であることが判明した。より多くの動物での調査を可能にするために、ELISA 系を確立した結果、和歌山県・三重県のサル、大分県・和歌山県・岐阜県のイノシシ、和歌山県・岐阜県・千葉県のシカが陽性であり、富山県・栃木県のイノシシは陰性であることが判明した。Oz ウイ

獣医科学部

ルスが人獣共通感染症であり、西日本で流行していることが確認された。フタトゲチマダニより昆虫医科学部で分離され、ウイルス一部でマウスにおける病原性を評価された Kabuto Mountain ウイルスの血清疫学調査を実施した結果、ウイルス中和試験により、山口県のヒト 20.8%、サル 3.4%、イノシシ 33.5%、シカ 4.7%、クマ 7 頭中 0 頭、ヌートリア 27 頭中 0 頭が陽性であることが確認された。他のフレボウイルスとの交差反応の可能性も考え、間接蛍光抗体法・ELISA とともに確認している。野生動物におけるフレボウイルス感染症を網羅的に調査するための SFTS ウイルス、Kabuto Mountain ウイルス、Mukawa ウイルスを含めた 14 種のフレボウイルスの N 蛋白、11 種の G 蛋白の発現に成功した。[前田健；伊澤晴彦、沢辺京子(昆虫医科学部)、Ngo T. B. Tran、下田宙(山口大学)]

レファレンス業務

I. 行政検査・依頼検査等

今年度は以下の行政検査・依頼検査等を実施した。

- 1) ブルセラ症疑い患者検体または分離株の行政検査：15 件(行) [今岡浩一]
- 2) カブノサイトファーガ感染症疑い患者検体または分離菌株の依頼検査：2 件(依) [鈴木道雄]
- 3) 鼠咬症疑い患者検体の依頼検査：3 件(依) [今岡浩一]
- 4) SFTS 疑い犬・猫検体の依頼検査：155 件(依) [石嶋慧多、立本完吾、朴ウンシル、井上雄介、原田倫子、前田健]
- 5) 狂犬病の行政検査・依頼検査 [野口章、井上智、加来義浩、奥谷晶子、前田健]
狂犬病疑い患者検体の行政検査：2 件(内 1 件は狂犬病陽性、1 件は陰性)
狂犬病疑い犬検体の依頼検査：1 件(陰性)
- 6) 野兎病疑い患者検体の行政検査：2 件 [堀田明豊]
- 7) SARS-CoV-2 (全所対応の一部)
国内の検疫所において採取され、SARS-CoV-2 遺伝子陽性となった検体からウイルス分離を実施し、分離された 24 株について全塩基配列を決定した。これらの株の一部は他研究機関へ分与された。[前田健、黒田雄大、山本つかさ；福士秀悦、山田壮一(ウイルス第 1 部)；藤本嗣人(感染症危機管理研究センター)]

品質管理に関する業務

I. 地方衛生研究所等(38 機関)を対象に、猫・犬における SFTSV 遺伝子検出に関する External Quality Assurance (EQA) を行った。また、10 機関を対象に「死亡動物のモニタリングシステム」のトライアルとシステム向上のためのフィードバックを実施した。

[朴ウンシル、宇田晶彦、今岡浩一、前田健]

研修業務

- 1) ブルセラ症について、令和 2 年度希少感染症診断技術研修会、東京、2021 年 2 月 [今岡浩一]
- 2) 第 8 回九州・沖縄地区狂犬病診断研修会及び令和元年度狂犬病予防業務地方ブロック技術研修会、主催：宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター・厚生労働省健康局結核感染症課、2021 年 1 月 25 日-26 日、宮崎大学(宮崎県) [井上智、堀田明豊、野口章、伊藤睦代]
- 3) Inoue S. OIE virtual workshop: Preparing for and dealing with incursion of an infectious disease - rabies. OIE World Organization for animal Health. Tokyo, Japan. (Time: 12-3pm JST) 22nd - 23rd March 2021.
- 4) Inoue, S. OIE virtual workshop: Preparing for and dealing with incursion of an infectious disease - rabies (Simulation exercise for nominated participants). OIE World Organization for animal Health. Tokyo, Japan. (Time: 3.30-6.30pm JST) 24th March 2021.
- 5) 「SFTS の最新の状況について」令和 2 年度動物由来感染症対策技術研修会、WEB 公開、2020 年 11 月 [石嶋慧多、立本完吾、朴ウンシル、前田健]

発表業績一覧

I. 誌上発表

欧文発表

- 1) Morikawa M, Mitarai S, Kojima I, Okajima M, Hatai H, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Matsuo A, Yoshida A, Hayashi K, Ozawa M, Masatani T. Detection and molecular characterization of Babesia sp. in wild boar (*Sus scrofa*) from western Japan. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021 Jul;12(4):101695. doi:

- 10.1016/j.ttbdis.2021.101695. Epub 2021 Feb 27. PMID: 33677233.
- 2) Yamada S, Fukushi S, Kinoshita H, Ohnishi M, Suzuki T, Fujimoto T, Saijo M, Maeda K; Virus Diagnosis Group (NIID Toyama). Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. *BMJ Open Respir Res.* 2021 Feb;8(1):e000830. doi: 10.1136/bmjresp-2020-000830. PMID: 33627333; PMCID: PMC7907832.
 - 3) Rattanatumhi K, Prasertsincharoen N, Naimon N, Kuwata R, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Supriyono, Tran NTB, Kuroda Y, Tatemoto K, Virhuez Mendoza M, Hondo E, Rerkamnuaychoke W, Maeda K, Phichitraslip T. A serological survey and characterization of Getah virus in domestic pigs in Thailand, 2017-2018. *Transbound Emerg Dis.* 2021 Feb 22. doi: 10.1111/tbed.14042. Epub ahead of print. PMID: 33617130.
 - 4) Tsuru M, Suzuki T, Murakami T, Matsui K, Maeda Y, Yoshikawa T, Kurosu T, Shimojima M, Shimada T, Hasegawa H, Maeda K, Morikawa S, Saijo M. Pathological Characteristics of a Patient with Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome (SFTS) Infected with SFTS Virus through a Sick Cat's Bite. *Viruses.* 2021 Jan 29;13(2):204. doi: 10.3390/v13020204. PMID: 33572914; PMCID: PMC7912689.
 - 5) Kirino Y, Ishijima K, Miura M, Nomachi T, Mazimpaka E, Sudaryatma PE, Yamanaka A, Maeda K, Sugimoto T, Saito A, Mekata H, Okabayashi T. Seroprevalence of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus in Small-Animal Veterinarians and Nurses in the Japanese Prefecture with the Highest Case Load. *Viruses.* 2021 Feb 2;13(2):229. doi: 10.3390/v13020229. PMID: 33540629; PMCID: PMC7912989.
 - 6) Park ES, Fujita O, Kimura M, Hotta A, Imaoka K, Shimojima M, Saijo M, Maeda K, Morikawa S. Diagnostic system for the detection of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus RNA from suspected infected animals. *PLoS One.* 2021 Jan 28;16(1):e0238671. doi: 10.1371/journal.pone.0238671. PMID: 33507990; PMCID: PMC7842937.
 - 7) Tamukai K, Minami S, Kadokaru S, Mitsui I, Maeda K, Une Y. New canine parvovirus 2a infection in an imported Asian small-clawed otter (*Aonyx cinereus*) in Japan. *J Vet Med Sci.* 2021 Apr 3;83(3):507-511. doi: 10.1292/jvms.20-0480. Epub 2021 Jan 21. PMID: 33473050; PMCID: PMC8025432.
 - 8) Kimprasit T, Nunome M, Iida K, Murakami Y, Wong ML, Wu CH, Kobayashi R, Hengjan Y, Takemae H, Yonemitsu K, Kuwata R, Shimoda H, Si L, Sohn JH, Asakawa S, Ichiyanagi K, Maeda K, Oh HS, Mizutani T, Kimura J, Iida A, Hondo E. Dispersal history of *Miniopterus fuliginosus* bats and their associated viruses in east Asia. *PLoS One.* 2021 Jan 14;16(1):e0244006. doi: 10.1371/journal.pone.0244006. PMID: 33444317; PMCID: PMC7808576.
 - 9) Hotta A, Sharma N, Fujita O, Uda A, Tanabayashi K, Tian D, Yamada A, Morikawa S, Maeda K. Virulence of *Francisella tularensis* Subspecies *holarctica* Biovar *japonica* and Phenotypic Change during Serial Passages on Artificial Media. *Microorganisms.* 2020 Nov 27;8(12):1881. doi: 10.3390/microorganisms8121881. PMID: 33261098; PMCID: PMC7760542.
 - 10) Hotta A, Fujita O, Tanabayashi K, Uda A, Shindo J, Park CH, Sato H, Suzuki M, Morikawa S, Maeda K. Complete Genome Sequences of Two Strains of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* bv. *japonica*. *Microbiol Resour Announc.* 2020 Nov 5;9(45):e01127-20. doi: 10.1128/MRA.01127-20. PMID: 33154017; PMCID: PMC7645672.
 - 11) Nabeshima K, Sato S, Kabeya H, Komine N, Nanashima R, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Suzuki K, Maruyama S. Detection and phylogenetic

- analysis of *Bartonella* species from bat flies on eastern bent-wing bats (*Miniopterus fuliginosus*) in Japan. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2020 Dec;73:101570. doi: 10.1016/j.cimid.2020.101570. Epub 2020 Oct 25. PMID: 33129175.
- 12) Tomino Y, Andoh M, Horiuchi Y, Shin J, Ai R, Nakamura T, Toda M, Yonemitsu K, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Kodera Y, Oshima I, Takayama K, Inadome T, Shioya K, Fukazawa M, Ishihara K, Chuma T. Surveillance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Campylobacter* spp. in wild Japanese deer (*Cervus nippon*) and boar (*Sus scrofa*). *J Vet Med Sci.* 2020 Sep 24;82(9):1287-1294. doi: 10.1292/jvms.19-0265. Epub 2020 Jul 13. PMID: 32655094; PMCID: PMC7538328.
- 13) Tarigan R, Shimoda H, Doysabas KCC, Maeda K, Iida A, Hondo E. Role of pattern recognition receptors and interferon-beta in protecting bat cell lines from encephalomyocarditis virus and Japanese encephalitis virus infection. *Biochem Biophys Res Commun.* 2020 Jun 18;527(1):1-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.04.060.
- 14) Masatani T, Hayashi K, Morikawa M, Ozawa M, Kojima I, Okajima M, Takano A, Shimoda H, Maeda K, Matsuo A, Yoshida A. Molecular detection of tick-borne protozoan parasites in sika deer (*Cervus nippon*) from western regions of Japan. *Parasitol Int.* 2020 Dec;79:102161. doi: 10.1016/j.parint.2020.102161. Epub 2020 Jun 19. PMID: 32569748.
- 15) Tamukai K, Minami S, Kurihara R, Shimoda H, Mitsui I, Maeda K, Une Y. Molecular evidence for vaccine-induced canine distemper virus and canine adenovirus 2 coinfection in a fennec fox. *J Vet Diagn Invest.* 2020 Jul;32(4):598-603. doi: 10.1177/1040638720934809. Epub 2020 Jun 19. PMID: 32560597; PMCID: PMC7438639.
- 16) Ishida-Kuroki K, Takeshita N, Nitta Y, Chuma T, Maeda K, Shimoda H, Takano A, Sekizaki T. 16S rRNA Gene Amplicon Sequence Data from Feces of Five Species of Wild Animals in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2020 May 28;9(22):e00368-20. doi: 10.1128/MRA.00368-20. PMID: 32467273; PMCID: PMC7256260.
- 17) Ishida-Kuroki K, Takeshita N, Nitta Y, Chuma T, Maeda K, Shimoda H, Takano A, Sekizaki T. 16S rRNA Gene Amplicon Sequence Data from Feces of Wild Deer (*Cervus nippon*) in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2020 May 28;9(22):e00346-20. doi: 10.1128/MRA.00346-20. PMID: 32467271; PMCID: PMC7256258.
- 18) Supriyono, Kuwata R, Torii S, Shimoda H, Ishijima K, Yonemitsu K, Minami S, Kuroda Y, Tatemoto K, Tran NTB, Takano A, Omatsu T, Mizutani T, Itokawa K, Isawa H, Sawabe K, Takasaki T, Yuliani DM, Abiyoga D, Hadi UK, Setiyono A, Hondo E, Agungpriyono S, Maeda K. Mosquito-borne viruses, insect-specific flaviviruses (family Flaviviridae, genus Flavivirus), Banna virus (family Reoviridae, genus Seadornavirus), Bogor virus (unassigned member of family Permutotetraviridae), and alphamesoniviruses 2 and 3 (family Mesoniviridae, genus Alphamesonivirus) isolated from Indonesian mosquitoes. *J Vet Med Sci.* 2020 Jul 31;82(7):1030-1041. doi: 10.1292/jvms.20-0261. Epub 2020 May 25. PMID: 32448813; PMCID: PMC7399325.
- 19) Suzuki M, Umeda K, Kimura M, Imaoka K, Morikawa S, Maeda K. *Capnocytophaga felis* sp. nov. isolated from the feline oral cavity. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2020 May;70(5):3355-3360. doi: 10.1099/ijsem.0.004176. PMID: 32375938.
- 20) Manalo D.L., Gomez, M.R.R., Jarilla B.R., Ang M.J.C., Tuason L.T., Demetria C.S., Medina P.B., Dilig J.E., Avenido-Cervantes E.F., Park C-H., Inoue S. (2020) A preliminary evaluation of a locally produced biotinylated polyclonal anti-rabies antibody for direct rapid immunohistochemical test (DRIT) in the Philippines. *Acta Tropica.* 211:5578-5579.

doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105610.

- 21) Shiwa N., Manalo D.L., Boldbaatar B., Noguchi A., Inoue S. and Park C-H. (2020) Follicle-sinus complexes in muzzle skin of domestic and wild animals as diagnostic material for detection of rabies. J. Vet. Med. Sci. 82:1204-1208. doi: 10.1292/jvms.20-0252.
- 22) Tu W-J., Wang M-C., Jau G-C., Chang Y-K., Lin C-C., Inoue S., Butudom P., Lai C-H., Fei C-Y. (2020) A study of the temporal dynamics and human exposure to the Formosan ferret-badger (*Melogale moschata subaurantiaca*) rabies, 2013 to 2019, Taiwan. Thai J. Vet. Med. 50:543-548.
- 23) Thi Thu Ha Hoang, Duc Anh Dang, Thanh Hai Pham, Minh Hoa Luong, Nhu Duong Tran, Tran Hien Nguyen, Thuy Tram Nguyen, Tran Tuan Nguyen, Satoshi Inoue, Shigeru Morikawa, Akiko Okutani. Epidemiological and comparative genomic analysis of *Bacillus anthracis* isolated from northern Vietnam. PloS one 15(2) e0228116. 2020.
- 24) Okada A, Hotta A., Kimura M, Park E., Morikawa S, Inoshima Y. A retrospective survey of the seroprevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in wild animals in Japan. Vet Med Sci.2020 29 Nov. doi:10.1002/vms3.400
- 25) Nakamura T, Shimizu T, Inagaki F, Okazaki S, Saha SS, Uda A., Watanabe K, Watarai M. Identification of Membrane-Bound Lytic Murein Transglycosylase A (MltA) as a Growth Factor for *Francisella novicida* in a Silkworm Infection Model. Front Cell Infect Microbiol. 2021 Jan 22;10:581864. doi: 10.3389/fcimb.2020.581864.
2. 和文発表
- 1) 前田 健「Globalization と人獣共通感染症」日本臨牀 2021. 79 卷 2 号 124-132
- 2) 前田 健「人獣共通感染症：動物から学ぶ」実験医学 (羊土社)2021. 39 (2) 56-64
- 3) 2020
- 4) 前田 健「ペットと野生動物における COVID-19」動物用ワクチン—ニュースレター2020. 12. 24 No. 22 P32-39
- 5) 石嶋慧多、朴ウンシル、松鶴 彩、早坂大輔、桐野有美、岡林環樹、森川 茂、水谷哲也、松野啓太、前田 健「国内ではこれまで経験のない脅威：SFTS」ヒトと動物の共通感染症研究会ニュースレターNo. 19、2020年 8 月 p15-17
- 6) 前田 健「4.7 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)」『犬の内科診療 Part 2』(石田卓夫総監修) 緑書房 2020年 7 月 30 日 p274-278
- 7) 前田 健「1-6 ズーノーシス (人獣共通感染症)」『衛生動物の事典』pp12-13 (朝倉書店、東京) 2020年 5 月
- 8) 加藤亮介、井出京子、上原雅江、仲野唯、池添正哉、岡田邦彦、嶋崎剛志、木村昌伸、今岡浩一. 海外渡航歴のない日本人男性の血液培養から新規 *Bruceella* 属菌を検出した一症例. 日本臨床微生物学会雑誌, 30(4):258-263, 2020 (Abstract in English)
- 9) 矢崎達也、佐藤俊一、臼田真帆、野村俊、原亮祐、渡部理恵、石井亘、星研一、今岡浩一、矢彦沢裕之. 髄液から *Streptobacillus notomytis* 特異的遺伝子が検出された、鼠咬症による髄膜炎の 1 例. Neuroinfection, 25(1):150-154, 2020 (Abstract in English)
- 10) 今岡浩一. ナイチングールが晩年まで苦しんだ感染症?—ブルセラ症. in:ナイチングールの越境 2・感染症:ナイチングールはなぜ「換気」にこだわったのか(岩田健太郎, 徳永哲, 平尾真智子, 丸山健夫, 今岡浩一, 岩田恵里子, 百島祐貴 著), 日本看護協会出版会, pp. 67-73, 2021
- 11) 井上 智. 1章 法定伝染病/1-5 狂犬病. 家畜伝染病ハンドブック. 編集:村上賢二, 彦野弘一. 朝倉書店. 初版第 1 刷(11 月 1 日), p24-30, 2020
- 12) 井上 智. [解説] 狂犬病という動物由来感染症:バイオセーフティの視点を込めて. BMSA, 第 33 卷, 第 2 号, 14-22 (66-74) (3 月 31 日発行), 2021
- 13) 野兎病. 堀田明豊. 家畜伝染病ハンドブック. 編集:村上賢二, 彦野弘一. 朝倉書店. 初版第 1 刷(11 月 1 日), p197-198, 2020

II. 学会発表

獣医科学部

1. 国際学会
なし
 2. 国内学会
 - 1) 安田和世, 甲田賢治, 鈴木道雄 犬咬傷 4 日後に死亡したカプノサイトファーガ・カニモルサス感染症の 1 剖検例. 第 110 回日本病理学会総会, 東京, 2020 年 7 月
 - 2) 椎名亮太, 志和 希, 君付和範, DL Manalo, 井上 智, 朴 天鎬. 狂犬病発症犬の三叉神経と脳幹に関する病理学的研究. 第 163 回日本獣医学会学術集会(Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.
 - 3) 河合せりな, 志和 希, 君付和範, 山田健太郎, 井上謙一, 井上 智, 朴 天鎬. 街上毒狂犬病ウイルスの脳内侵入経路に関する実験病理学的研究. 第 163 回日本獣医学会学術集会 (Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.
 - 4) 伊東紗希, 志和 希, 君付和範, 山田健太郎, 井上 智, 朴 天鎬. 街上毒狂犬病ウイルス(1088 株)を右後肢筋肉内に接種したヌードマウスの肉球に関する病理学的研究. 第 163 回日本獣医学会学術集会 (Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.
 - 5) 栗津原優美, 兼子千穂, 志和 希, 君付和範, 井上 智, 朴 天鎬. タヌキの鼻口部洞毛および肉球におけるメルケル細胞の局在. 第 163 回日本獣医学会学術集会 (Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.
 - 6) 君付和範, 齊藤信夫, 山田健太郎, Daria L. Manalo, Milagros R. Manangitt, 朴 天鎬, 井上 智, Beatriz P. Quiambao, 西園 晃. フィリピン中部ルソン島における犬狂犬病の発症状況と迅速診断キットを用いた評価. 第 163 回日本獣医学会学術集会 (Web 開催). 2020 年 9 月 14 日-30 日, 山口大学・吉田キャンパス, 山口市, 山口県.
 - 7) 清水隆, 仲村岳真, 渡邊健太, 宇田晶彦, 度会雅久 「野兎病菌病原因子の同定と機能解析」、2020/9/8-10 第 163 回日本獣医学会学術集会 (山口大、山口)
 - 8) 岡崎翔馬, 清水隆, 渡邊健太, 宇田晶彦, 度会雅久 「カイク感染モデルを用いた野兎病菌病原因子の探索」、2020/9/8-10 第 163 回日本獣医学会学術集会 (山口大、山口)
 - 9) 立本完吾, 石嶋慧多, 黒田雄大, Milagros Virhuez Mendoza, Eun-sil Park, 鈴木和男, 前田 健, 「アラグマにおける重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染の解析」 第 72 回日本衛生動物学会大会, 東京医科歯科大学 (東京), 2020 年 4 月 17 日.
3. セミナー・講演等
 - 1) 前田 健 「動物のコロナウイルス感染症の多様性」 第 13 回日本医師会・日本獣医学会による連携シンポジウム「with コロナ禍におけるペットとの付き合い方ー正しく知ろう、動物とヒトのコロナウイルス感染症」令和 3 年 2 月 20 日 (土) 13:00-16:00WEB 配信
 - 2) 前田 健 「SFTS について考える」第 20 回人と動物の共通感染症研究会・学術集会令和 2 年 10 月 24 日 (金) 14:20-14:40 (WEB 開催)
 - 3) 前田 健 「身の回りで何が起きているのか～犬猫、魚から環境まで～ (オーバービュー)」 第 69 回日本感染症学会東日本地方学術集会シンポジウム 13 身の回りに潜む耐性菌～犬猫、魚から環境まで～令和 2 年 10 月 22 日 16:40-18:10 (WEB 開催)
 - 4) 前田 健 「動物における新型コロナウイルス感染症」令和 2 年度動物由来感染症対策技術研修会令和 2 年 10 月 (WEB 開催)
 - 5) 前田 健 「伴侶動物と楽しく暮らしながら乗り越えよう」 オンライン日本臨床獣医学フォーラム新興感染症シンポジウム令和 2 年 9 月 (LIVE 配信)
 - 6) 前田 健 「SFTS の病態：マダニ以外の感染経路」第 94 回日本感染症学会学術集会講演会 シンポジウム 24 「重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) -明らかになった事実, 残された疑問-」 2020 年 8 月 20 日 (木) 10:20-12:00 (グランドニッコー東京 台場)
 - 7) 前田 健 「動物での新型コロナウイルス感染症：動物での診断と疫学」 第 17 回日本獣医内科学アカデミー学術大会 (JCVIM2021) 2021 年 2 月 19 日 (金) ～3 月 7 日 (日) WEB 配信
 - 8) 前田 健 「動物における新型コロナウイルス：動物からヒト、ヒトから動物へ」 令和 2 年度獣医公衆衛生講習会 2021 年 2 月 15 日 (月) ～3 月 12 日 (金) WEB 配信

獣医科学部

- 9) 前田 健「コロナウイルスと野生動物」令和 2 年度
日本獣医師会獣医学術学会年次大会オンラインセミナー（第 3 回目）「保全医学の視点と野生動物における感染症の現状」配信日時：令和 3 年 3 月 6 日（土）
13：00～16：00
- 10) 前田 健「野生動物を介したマダニ媒介感染症の拡大」福岡県”One Health”国際フォーラム 2021. 2021 年 1 月 30 日（土）18:00 から配信開始
- 11) 前田 健「動物由来感染症について」日本ペストコントロール協会 令和 2 年度防除技術研修会・感染症対策講習会 2020/12/03-13
- 12) 前田 健「動物における新型コロナウイルス感染症」令和 2 年度動物由来感染症対策技術研修会令和 2 年 10 月（講義資料）
- 13) 前田 健「SARS-CoV-2 発生は珍しいことではない：動物由来感染症から学ぶ」大阪大学共創機構講演会 令和 2 年 9 月 4 日（金）14:00-17:00（WEB 会議）
- 14) 鈴木道雄 カプノサイトファーガ感染症. 第 20 回人と動物の共通感染症研究会, オンライン, 2020 年 10 月